

A SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA AUMENTA A EXPRESSÃO DO RECEPTOR DO IGF-1 EM TECIDO MUSCULAR DE RATOS WISTAR TREINADOS COM EXERCÍCIO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE

Carlos Eduardo Haar Flores¹, Débora Czarnabay¹
 Jéssica Niederauer Leote², Ilma Simoni Brum¹
 Helena von Eye Corletta¹, Edison Capp¹
 Gustavo Dias Ferreira³

RESUMO

Introdução: O exercício intervalado de alta intensidade é uma opção viável para a obtenção de bons resultados físicos, otimizando tempo. Intervenções dietéticas podem ser um complemento para potencializar ganhos. A creatina é uma das suplementações mais utilizadas e está relacionada com potencial aumento de força e de massa magra. **Objetivo:** analisar o impacto da suplementação de creatina junto ao treinamento intervalado de alta intensidade sobre a expressão proteica do receptor do IGF-1 no tecido muscular, concentrações sanguíneas de lactato e glicemia. **Materiais e métodos:** Trinta e sete ratos *Wistar* machos com 75 dias de vida no começo do experimento foram randomizados e separados em três grupos: A (treinado sem suplementação, n= 13 animais), B (treinado suplementado com creatina + carboidrato, n= 12 animais) e C (treinado suplementado com creatina, n= 12 animais). O protocolo de treinamento consistiu em 1 minuto de exercício a 110% da velocidade de fadiga do teste máximo em esteira, seguidos por 30 segundos a 40%, totalizando 30 minutos, cinco vezes por semana, durante 32 dias corridos. A suplementação de creatina e creatina + carboidrato ocorreu durante todo o período de treinamento, duas horas antes do exercício. **Resultados:** Foi verificada uma melhoria no desempenho físico dos ratos em todos os grupos. Bem como uma maior expressão proteica do IGF-1R nos grupos treinados suplementados (B e C) quando comparados ao grupo treinado sem suplementação (A). Glicemia e lactato não apresentaram diferenças entre os grupos. **Conclusão:** a suplementação de creatina está envolvida no aumento da expressão proteica do IGF-1R.

Palavras-chave: Treinamento intervalado de alta intensidade. Creatina. Receptor IGF Tipo I.

ABSTRACT

Creatine supplementation increases expression of igf-1 receptor in muscle tissue of wistar after High-intensity interval training

High Intensity Interval Training is a good option for obtaining physical results optimizing time. Dietary interventions can be a complement to potentiate gains. Creatine is one of the most commonly supplements used and is associated with potential increase in strength. The objective of this study was to analyze the impact of creatine supplementation on high-intensity interval training in the protein expression of the IGF-1 receptor in muscle tissue and in the blood lactate and glycemia concentrations. Thirty-seven male Wistar rats with 75 days at the beginning of the experiment were randomized and separated into three groups: A (Training without supplementation, 13 animals), B (Training supplemented with Creatine plus Carbohydrate, 12 animals) and C (Training supplemented with Creatine, 12 animals). The training protocol consisted of 1 minute of exercise at 110% of the fatigue velocity of the maximum treadmill test, followed by 30 seconds to 40%, totaling 30 minutes, five times a week, for thirty-two consecutive days. Supplementation of creatine and creatine + carbohydrate occurred throughout the training period, two hours before exercise. There was an improvement in the physical performance of the rats in all groups. As well as increased protein expression of IGF-1R in the supplemented trained groups (B and C) when compared to the trained group without supplementation (A). Glycemia and lactate did not present differences between groups. It is concluded that creatine supplementation is involved in the increase of the protein expression of IGF-1R.

Key words: High-intensity interval training. Creatine. Receptor IGF Type 1.

INTRODUÇÃO

A redução dos níveis de atividade física relacionada ao aumento da obesidade e outras doenças metabólicas na população tem diversas justificativas, dentre elas, a ocupada rotina e falta de tempo para a prática de exercícios (O'Neill, 2013; Vella, Taylor e Drummer, 2017).

Para tanto, o exercício intervalado de alta intensidade pode ser uma alternativa, pois além do menor tempo dispendido, é possível impor carga máxima no sistema muscular e cardiorrespiratório, oferecendo uma melhor relação tempo-eficiência (Gillen e colaboradores, 2012; Graef, 2009; Herbert e colaboradores, 2017; Schaun e Del Vecchio, 2017).

Muitas vezes, indivíduos que realizam treinamento de alta intensidade podem melhorar seu rendimento e desempenho com auxílio de controle dietético. Uma alternativa é a utilização de suplementos alimentares como forma de manutenção dos níveis de energia estáveis ao longo do exercício (Coletta, Thompson e Raynor, 2013; Miramonti e colaboradores, 2016; Yen e colaboradores, 2013)

A ingestão de alimentos ou suplementos ricos em carboidratos já é bem estabelecida na literatura e aumenta os estoques de glicogênio corporal, aumentando o tempo total de exercício físico até a fadiga (Costill e Hargreaves, 1992), assim como a depleção destes estoques pode ser um fator limitante na duração do exercício (Hill e colaboradores, 2013).

Outro suplemento amplamente utilizado e descrito para aumento de desempenho, força, potência e massa magra é a creatina (Bargieri e Vancini, 2005; Kreider e colaboradores, 2017).

A fosfocreatina celular participa do sistema energético do fosfagênio, o qual proporciona uma potência muscular máxima ou de pico por curtos períodos de tempo, assim, a suplementação de creatina pode preservar glicogênio muscular e também reduzir a concentração de lactato sanguíneo após exercício intermitente de alta intensidade (Roschel e colaboradores, 2010; Terenzi, 2013).

Além disso, períodos maiores de suplementação com creatina propiciam um aumento na força e velocidade de contração e

menor fadiga em exercícios intermitentes de alta intensidade.

Estes resultados também são acompanhados pelo aumento no consumo de oxigênio e um maior fluxo sanguíneo (Jager e colaboradores, 2008).

Já o uso da suplementação de carboidratos associada com a creatina é devido a hipótese de potencialização na captação da creatina pela célula muscular.

Tal efeito ocorre devido ao aumento na secreção de insulina após a ingestão de carboidratos, sendo que este hormônio parece estar envolvido diretamente nos processos de captação da proteína transportadora de creatina na membrana plasmática (Carlson, Kenefick e Koch, 2013; Snow e Murphy, 2003).

Apesar das consequências dessa suplementação estarem bem descritas, a origem do aumento de massa magra com a utilização da creatina ainda não está totalmente elucidada, e pode ter relação com a condição anabólica da célula envolvendo o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) e os efeitos desencadeados por sua ligação no receptor específico (IGF-1R), assim como a expressão desse receptor, promovendo os efeitos celulares (Deldicque e colaboradores, 2005).

Desta forma, o objetivo do nosso trabalho foi analisar o impacto da suplementação de creatina e carboidrato durante um período de treinamento intervalado de alta intensidade na expressão proteica de IGF-1R no tecido muscular, além da concentração de lactato e de glicose no sangue, antes e após teste máximo de ratos treinados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Realizamos um estudo experimental, com 37 ratos *Wistar* machos com 75 dias de vida no começo do experimento.

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (protocolo de número 110345/11), e foi realizado de acordo com as recomendações das Normas Internacionais de Proteção aos Animais e do COBEA (Código Brasileiro de Experimentação Animal) - 1988, concordando com o Guia de Cuidados e Utilização de Animais de Laboratório do *National Institutes of Health* (NIH). O laboratório onde foram realizados os

experimentos é credenciado no CNEN (AP-0875), e cumpre a legislação recomendada (Lei nº 11.794/08).

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado considerando um desvio padrão de 0,40 para o grupo treinado suplementado com creatina + carboidrato, e de 0,25 para o grupo sem suplementação, encontrando uma diferença de 0,38 foram necessários 12 animais por grupo, para um poder de 80%.

Os ratos foram aclimatados em condições de biotério, a uma temperatura ambiente de $\pm 22^{\circ}\text{C}$ e com ração e água à vontade.

A opção por ratos machos foi para minimizar possíveis efeitos do ciclo hormonal e comportamentais das fêmeas em relação a prática do exercício físico.

O ciclo claro-escuro invertido 12h/12h foi iniciado 20 dias antes do início do experimento. Os animais foram randomizados utilizando o site www.random.org em três grupos: Grupo A - treinado sem suplementação/controle (n = 13), Grupo B - treinado suplementado com creatina + carboidrato (n = 12), Grupo C - treinado suplementado com creatina (n = 12).

No primeiro dia do experimento todos os ratos foram submetidos à pesagem e a uma coleta de 1,5 mL de sangue do plexo retro-orbital após anestesia com isoflurano. Os animais foram habituados na esteira por quatro dias consecutivos com 10, 20, 25 e 30 min/dia de treinamento, respectivamente.

Após a etapa de aclimação, no dia 06, todos os animais foram submetidos ao teste máximo em esteira para determinação da velocidade máxima até a fadiga (VF), seguindo o protocolo no qual a velocidade é incrementada em 0,3 km/h a cada três minutos (Brooks e White, 1978).

O aumento da velocidade possui correlação significativa com o consumo de oxigênio VO_2 , validando a prescrição do treinamento aos animais (Rodrigues e colaboradores, 2007).

No dia 08 foi iniciado o treinamento dos animais concomitante com a suplementação por gavagem, duas horas antes do exercício de acordo com os grupos: administração oral de água 2mL (grupo sem suplementação - A), 2mL de solução de glicose 10% + creatina (grupo suplementado com creatina + carboidrato - B) e 2mL de água

+ creatina (grupo suplementado com creatina - C).

Na primeira semana do experimento, foi realizada uma fase de carga com dose de 0,430 g de creatina/kg de massa corporal do animal (creatina micronizada – Universal Nutrition CreaPure) e nos dias restantes do experimento, a fase de manutenção com dose de 0,073 g de creatina/kg de massa corporal para todos os animais suplementados (Tarnopolsky e colaboradores, 2003).

O protocolo de exercício dos três grupos ocorreu por trinta e dois dias consecutivos de treinamento (sempre no escuro), cinco vezes por semana, e consistiu de 1 min de corrida a 110% da velocidade de fadiga (VF) obtida no teste, seguidos de 30s de recuperação a 40% da VF, de forma intervalada, num total de 30 min, para todos os ratos (Giesel e colaboradores, 2009).

No dia 40, após os trinta e dois dias de treinamento, foi realizado um reteste máximo na esteira, assim como as medidas de glicemia antes e após o teste, e lactato sérico após o teste na esteira.

No último dia do experimento (dia 41), os animais foram eutanasiados por decapitação em guilhotina para coleta de sangue e tecido muscular gastrocnêmico.

A amostra de músculo foi congelada em nitrogênio líquido e, após, estocados a -80°C . O sangue foi centrifugado e o plasma estocado a -20°C .

Determinação de glicose e lactato sérico

Os níveis de glicose e lactato foram determinados com o auxílio dos kits Accutrend Plus (Roche®) na Unidade de Experimentação Animal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, seguindo protocolo do fabricante.

Análise proteica

A análise proteica foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular Endócrina e Tumoral do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

A extração de proteínas foi realizada a partir da homogeneização de tecido muscular com 300 μL do tampão RIPA (solução de lise contendo 50 mM HEPES, pH 7,5, 1 mM PMSF, 100 mM NaF, 10 mM de $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ e 2 mM de NaVO_4 , 0,1% Triton X-100 e leupeptina). A seguir, as amostras foram

centrifugadas a 8000 x g por 15 min a 4°C e o sobrenadante coletado e estocado a -20°C.

A concentração de proteínas foi mensurada pelo método de Bradford modificado e a quantificação proteica pela técnica de *Western blotting* (Burgomaster e colaboradores, 2005; Gao e colaboradores, 2016).

Foi utilizado o anticorpo primário anti-IGF-1R (life technologies, 701067) e o secundário goat anti-rabbit (Millipore, A6154). Como proteína constitutiva foi utilizado a beta-tubulina (Invitrogen, BT7R).

Análise estatística

O teste de normalidade de Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliar a distribuição das variáveis analisadas.

Os dados com distribuição normal estão apresentados por média \pm desvio padrão (performance, glicemia e IGF-1R), e os dados sem distribuição normal estão apresentados por mediana e intervalo interquartis (lactato).

A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para avaliar as médias entre os grupos, sendo realizado um teste Post Hoc de

Tukey HSD, e o teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para a análise das medianas entre os grupos. O teste *t* pareado foi utilizado para a análise das médias em dois tempos diferentes dentro de cada grupo.

Para todos os testes, as diferenças encontradas foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Todas as análises foram feitas através do processador de dados SPSS 20.0 (*Statistical Package for the Social Sciences*).

RESULTADOS

O protocolo de treinamento intervalado de alta intensidade foi eficaz para melhorar a performance no teste máximo de esteira.

A figura 1 apresenta a análise de cada grupo em dois tempos diferentes, antes do protocolo de treinamento e depois do protocolo de treinamento, indicando que em todos os grupos houve um acréscimo da velocidade de teste.

Apesar da suplementação, não foram apresentadas diferenças de desempenho entre os grupos.

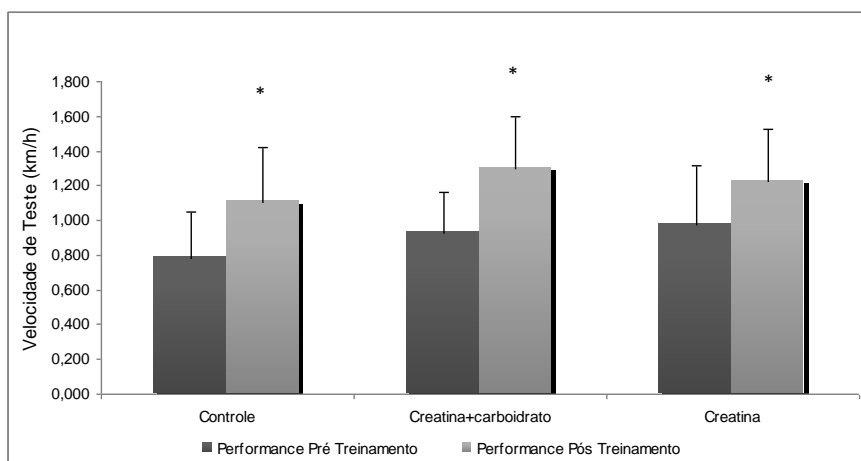


Figura 1 - Resultados obtidos no teste máximo em esteira rolante na análise de pré e pós treinamento de ratos Wistar machos adultos. Valores apresentados como média \pm desvio padrão ($p < 0,05$). Test *t* pareado entre pré e pós, ANOVA entre os grupos.

A análise de glicemia foi realizada com sangue coletado antes e imediatamente após o último teste máximo em esteira rolante, isto para cada grupo ter seu controle, visto que a suplementação pode alterar a glicemia, enquanto a análise de lactato foi com sangue coletado apenas após o teste, visto que o

objetivo nesse caso foi observar a concentração desse metabólito apenas em resposta ao exercício máximo.

Como apresentado nas figuras 2 e 3, estas análises bioquímicas não foram diferentes entre os grupos.

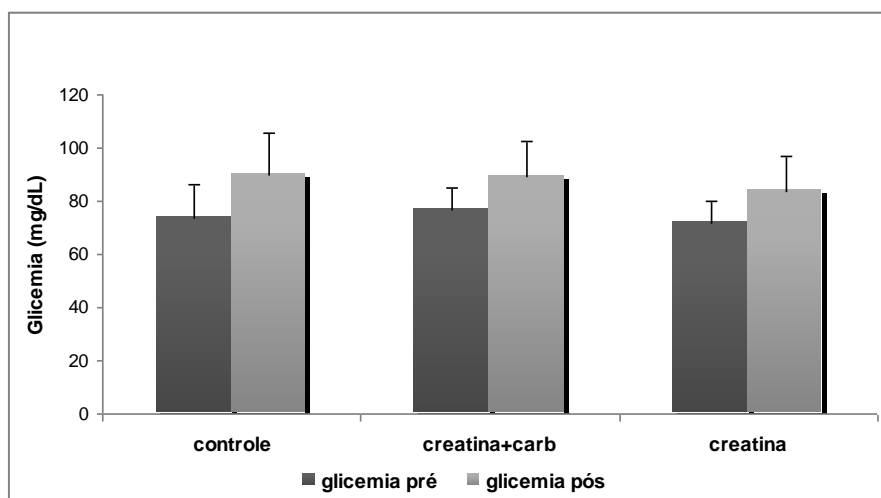


Figura 2 - Dosagem de glicemia em ratos Wistar machos adultos pré e pós teste máximo em esteira rolante. Os valores são apresentados como média \pm desvio padrão. Test t pareado entre pré e pós, ANOVA entre os grupos.

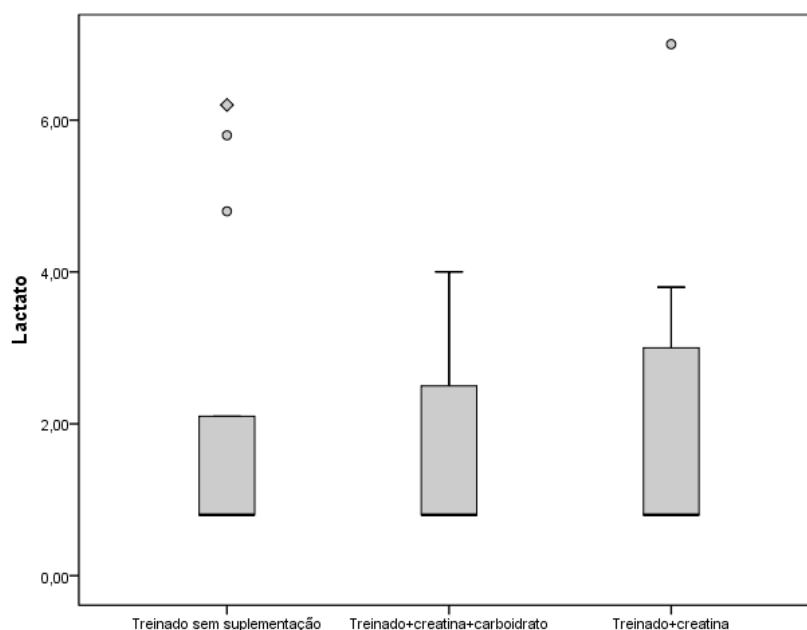


Figura 3 - Dosagem de lactato sanguíneo em ratos Wistar machos adultos após teste máximo em esteira rolante. Os valores são apresentados como mediana (percentil 25 – 75). Kruskal-Wallis entre os grupos.

A figura 4 apresenta a análise da expressão proteica do IGF-1R no músculo gastrocnêmio.

Está apresentada a média da razão de IGF-1R pela β -tubulina (normalizador da amostra).

Os grupos suplementados apresentaram uma maior expressão do receptor do IGF-1 em relação ao grupo que não recebeu suplementação.

A adição do carboidrato à suplementação de creatina não influenciou na expressão dessa proteína.

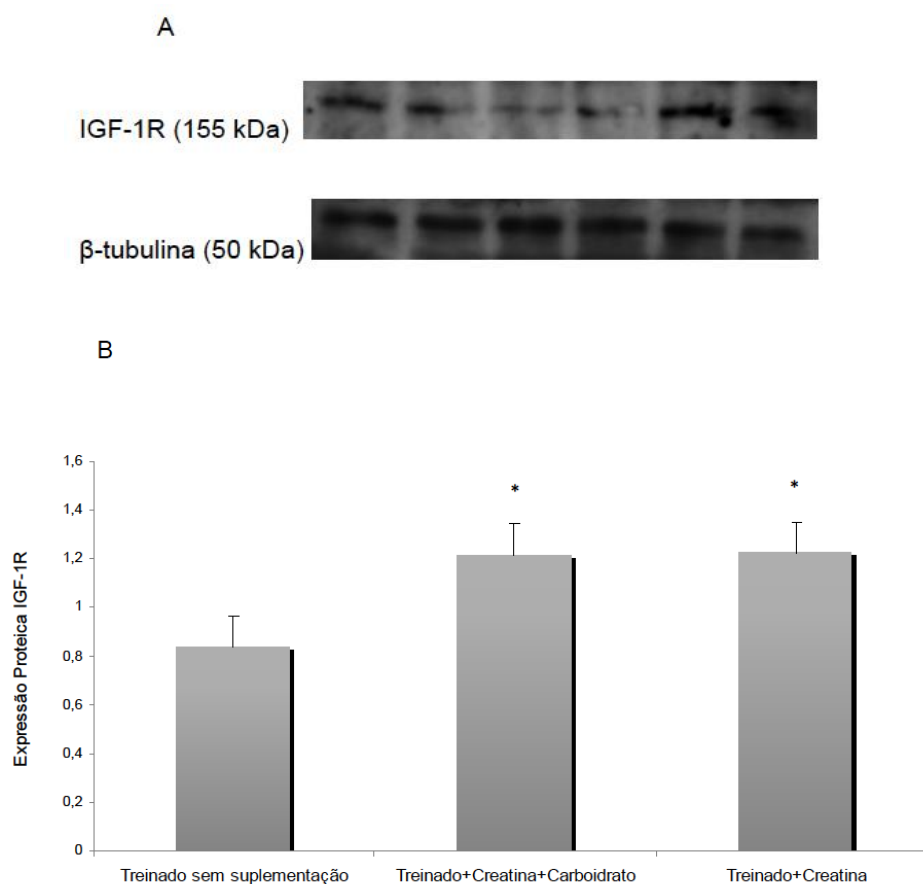


Figura 4 - A) Autoradiografia - Western blotting de IGF-1R e β -tubulina. B) Expressão proteica de IGF-1R/ β -tubulina. Média e desvio padrão da razão IGF-1R/ β -tubulina em ratos Wistar machos. ANOVA entre os grupos (sem suplementação vs creatina+carboidrato $p=0,047$; sem suplementação vs creatina $p=0,043$).

DISCUSSÃO

Como esperado, o presente estudo mostrou que o exercício físico intervalado de alta intensidade é uma boa estratégia para a melhora da performance.

Como principal resultado, observamos que a suplementação de creatina e de creatina + carboidrato aumentou a expressão do receptor de IGF-1 no tecido muscular em um período de treinamento de 32 dias.

Um importante característica deste protocolo é a utilização do ciclo claro/escuro invertido.

Como os ratos têm um ciclo biológico diferente dos humanos, o qual caracteriza-se pelo metabolismo mais intenso à noite, foi necessário inverter o ciclo para que os animais não apresentassem perda de desempenho e alterações hormonais condizentes com o

momento do sono, o que poderia propiciar um viés no experimento.

Em relação ao teste máximo na esteira, observamos melhora entre a análise pré-treinamento e pós-treinamento em todos os grupos, mostrando a eficiência do protocolo. Estes dados reiteram que o exercício intervalado de alta intensidade é uma importante estratégia para a melhoria do condicionamento físico, tendo como vantagem o fato de que pode proporcionar resultados semelhantes ao exercício contínuo em um menor período de treino (Giesel e colaboradores, 2009).

Nosso estudo mostrou que essa melhora foi independente de intervenção dietética ou suplementação. Como o exercício intervalado também utiliza seus períodos de alta intensidade em fontes anaeróbias para o fornecimento de energia, incluindo o sistema

fosfagênio, nossa hipótese era que a suplementação poderia melhorar ainda mais o desempenho dos animais, pois a elevação da creatina livre devido à suplementação exógena seria um recurso ergogênico para o reabastecimento da fosfocreatina (Roschel e colaboradores, 2010; Terenzi, 2013). Entretanto, não obtivemos o resultado esperado e, provavelmente, em uma atividade de potência os ratos suplementados poderiam ter uma melhor performance.

As análises bioquímicas de glicemia e lactato sanguíneo não foram diferentes entre os grupos suplementados ou não. A ingestão de carboidrato, no repouso, pode resultar em hiperglicemia e hiperinsulinemia, e com o exercício, é frequentemente seguida de uma queda nos níveis de glicose sanguínea, principalmente pela aumentada captação de glicose pelo tecido muscular, como também uma diminuição da gliconeogênese pelo fígado, assim, e em exercícios muito intensos ou longos, estes estoques podem atingir o limite, causando a fadiga (Jeukendrup, 2011).

A suplementação de creatina pode promover uma maior síntese de glicogênio muscular e sua maior utilização, promovendo maior oxidação da glicose e diminuição da produção de lactato, com consequente melhora no rendimento físico (Souza e colaboradores, 2006).

Tínhamos o objetivo de analisar se as concentrações de glicose no sangue alterariam nos grupos suplementados, principalmente com creatina + carboidrato, visto que poderia estar relacionado com os aumentos nos estoques de glicogênio nos músculos exercitados, gerando um melhor desempenho.

Já o lactato sanguíneo, como a coleta de sangue ocorreu imediatamente após o término do teste máximo em esteira, quando o animal chegava na fadiga, está relacionado com um marcador de via metabólica.

Exercícios físicos intensos são capazes de produzir quantidades elevadas de lactato, no entanto não foram encontradas diferenças entre os grupos, apesar da possibilidade do aumento dos estoques de fosfocreatina reduzirem a dependência da glicólise anaeróbia como uma fonte de reposição de ATP, e possivelmente diminuir a formação e acúmulo de lactato (Williams e Branch, 1998).

Roschel apresentou resultados conflitantes ao nosso estudo, após conjugar a suplementação de creatina e o exercício intervalado de alta intensidade, em uma resposta mais aguda, encontrou valores mais baixos na concentração de lactato sanguíneo no grupo suplementado em comparação com o grupo placebo (Roschel e colaboradores, 2010). Nossos resultados avaliaram as concentrações de glicose e lactato durante o último teste máximo após a intervenção e não durante o período de treino e suplementação.

Em cultura de células de mioblastos de ratos verificou-se, após 48h de tratamento com creatina, um aumento na oxidação da glicose e diminuição da produção de lactato em 42% comparado a grupo controle. Também foi possível observar um aumento na atividade do AMPK e do GLUT4 e no conteúdo de glicogênio, estando envolvido com metabolismo de carboidratos (Ceddia e Sweeney, 2004). Outro estudo em células, confirmou que o tratamento com creatina aumenta a quantidade de fosfocreatina e de glicose disponível (Xu, Lin e Huang, 2017).

O músculo esquelético compõe aproximadamente 55% da massa corporal magra em seres humanos, e é um tecido metabolicamente muito ativo, sendo o maior responsável pelo consumo energético corporal e pela captação de glicose após uma refeição (O'Neill, 2013).

Esta captação de glicose em repouso é feita mediante a ligação da insulina com o seu receptor na membrana da célula muscular. Tanto a insulina quanto o exercício físico promovem a translocação do GLUT4 de um compartimento intracelular para a membrana plasmática, permitindo a difusão da glicose para dentro da célula (Adams, 2013).

Portanto, o controle da captação da glicose é de vital importância para a manutenção do exercício.

Neste sentido, o IGF-1 aparece como um importante regulador do metabolismo da glicose, pois o mesmo possui afinidade ao receptor de insulina (IR), podendo auxiliar na captação de glicose durante o exercício, já que neste período a secreção de insulina está diminuída.

O exercício potencializa o sistema do IGF-1, e certamente há diferença de ativação desta via entre grupos treinados e não

treinados (Gibala, 2009; Owino, Yang e Goldspink, 2001).

Assim, como o foco do trabalho é na suplementação de creatina e/ou creatina + carboidratos, utilizamos como controle um grupo treinado com o mesmo protocolo, porém sem suplementação. Para tanto, as diferenças encontradas na expressão do receptor de IGF-1 entre os grupos suplementados e o controle demonstram que a creatina parece estar envolvida no sistema do IGF-1/IGF-1R.

Alguns trabalhos mostram o efeito da suplementação de creatina na expressão de genes em células musculares (Deldicque e colaboradores, 2008; Safdar e colaboradores, 2008), envolvidos na transdução de sinal, remodelamento do citoesqueleto, regulação da síntese de glicogênio e proteínas, proliferação e diferenciação de células satélites, reparação e replicação de DNA e sobrevivência celular, o que pode estar relacionado com a via do IGF-1/PI3K/AKT.

Mais especificamente, já é evidente que a suplementação de creatina aumenta o mRNA de IGF-1 (Deldicque e colaboradores, 2005), conseqüentemente o IGF-1 muscular (Burke e colaboradores, 2008), resultando assim em um aumento de potência muscular (Yáñez-Silva e colaboradores, 2017).

Sendo assim, sugerimos que o IGF-1, em níveis fisiológicos, pode atuar de forma autócrina/parácrina, participando da regulação do seu próprio receptor celular e alterando a sua expressão proteica.

Além disso, a suplementação de creatina parece contribuir para o crescimento muscular, e estar relacionada aos efeitos anabólicos do sistema do IGF-1 (Deldicque e colaboradores, 2005; Little e colaboradores, 2010), tal fortalecimento muscular certamente é benéfico inclusive na prevenção e combate à diversos tipos de doenças (Gualano e colaboradores, 2012; Kreider e colaboradores, 2017).

CONCLUSÃO

O protocolo de treinamento intervalado de alta intensidade utilizado no presente estudo, mostrou-se capaz de aumentar o desempenho físico dos animais, e a suplementação com creatina e/ou creatina + carboidrato aumenta a expressão proteica de receptor de IGF-1 no tecido muscular de ratos.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com financiamento do FIPE-HCPA e apoio da Unidade de Experimentação Animal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

REFERENCIAS

- 1-Adams, O. P. The impact of brief high-intensity exercise on blood glucose levels. *Diabetes Metab Syndr Obes.* Vol. 6. Num. 1. 2013. p. 113-122.
- 2-Bargieri, J. V.; Vancini, R. L. Suplementação de Creatina e Exercício. Dissertação de Mestrado. Centro de Estudos de Fisiologia do Exercício. Universidade Federal de São Paulo. São Paulo. 2005.
- 3-Brooks, G. A.; White T. P. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.* Vol. 45. Num. 6. 1978. p. 1009-1105.
- 4-Burgomaster, K. A.; Hughes S. C.; Heigenhauser, G. D.; Bradwell, S.N.; Gibala, M.J. Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. *J Appl Physiol.* Vol. 98. Num. 6. 2005. p. 1985-1990.
- 5-Burke, D. G., Candow, D. G., Chilibeck, P. D., MacNeil, L. G., Roy, B. D., Tarnopolsky, M. A., Ziegenfuss, T. Effect of Creatine supplementation and resistance-exercise training on muscle insulin-like growth factor in young adults. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* Vol. 18. Num. 4. 2008. p. 389-398.
- 6-Carlson, L. A., Kenefick, R. W., Koch A. J. Influence of carbohydrate ingestion on salivary immunoglobulin A following resistance exercise. *J Int Soc Sports Nutr.* Vol. 10. Num. 1. 2013. p. 14.
- 7-Ceddia, R. B., Sweeney, G. Creatine supplementation increases glucose oxidation and AMPK phosphorylation and reduces lactate production in L6 rat skeletal muscle cells. *J Physiol.* Vol. 555. Num. 2004. p. 409-421.

- 8-Coletta, A., Thompson, D. L., Raynor, H. A. The influence of commercially-available carbohydrate and carbohydrate-protein supplements on endurance running performance in recreational athletes during a field trial. *J Int Soc Sports Nutr.* Mar; Vol. 10. Num. 1. 2013. p. 17.
- 9-Costill, D. L., Hargreaves, M. Carbohydrate nutrition and fatigue. *Sports Med.* Vol. 13. Num. 2. 1992. p. 86-92.
- 10-Deldicque, L., Atherton, P., Patel, R., Theisen, D., Nielens, H., Rennie, M. J., Francaux, M. Effects of resistance exercise with and without Creatine supplementation on gene expression and cell signaling in human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* Vol. 104. Num. 2. 2008. p. 371-378.
- 11-Deldicque, L., Louis, M., Theisen, D., Nielens, H., Dehoux, M., Thissen, J. P., Rennie, M. J., Francaux, M. Increased IGF mRNA in human skeletal muscle after Creatine supplementation. *Med Sci Sports Exerc.* Vol. 37. Num. 5. 2005. p. 731-736.
- 12-Gao H, Deng, H., Xu, H., Yang, Q., Zhou, Y., Zhang, J., Zhao, D., Liu, F. MicroRNA-223 promotes mast cell apoptosis by targeting the insulin-like growth factor 1 receptor. *Exp Ther Med.* Vol. 11. Num. 6. 2016. p. 2171-2176.
- 13-Gibala, M. Molecular responses to high-intensity interval exercise. *Appl Physiol Nutr Metab.* Vol. 34. Num. 3. 2009. p. 428-432.
- 14-Giesel, V. T., Reche, M, Schneider, L., Araújo, L. C., Scalco, R., von Eye Corleta, H., Capp, E. Effects of intermittent high-intensity exercise and carbohydrate supplementation on IGF-1 and glycogen of Wistar rats. *Growth Horm IGF Res.* Vol. 19. Num. 2. 2009. p. 156-161.
- 15-Gillen, J. B., Little, J. P., Punthakee, Z., Tarnopolsky, M. A., Riddell, M. C., Gibala, M. J. Acute high-intensity interval exercise reduces the postprandial glucose response and prevalence of hyperglycaemia in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab.* Vol. 14. Num. 6. 2012. p. 575-577.
- 16-Graef, J. L., Smith, A. E., Kendall, K. L., Fukuda, D. H., Moon, J. R., Beck, T. W., Cramer, J. T., Stout, J. R. The effects of four weeks of creatine supplementation and high-intensity interval training on cardiorespiratory fitness: a randomized controlled trial. *J Int Soc Sports Nutr.* Vol. 6. Num.18, 2009.
- 17-Gualano, B., Roschel, H, Lancha-Jr, A. H., Brightbill, C.E, Rawson, E.S. In sickness and in health: the widespread application of Creatine supplementation. *Amino Acids.* Vol. 43. Num. 2. 2012. p. 519-529.
- 18-Herbert, P., Hayes, L.D., Sculthorpe, N. F., Grace, F. M. HIIT produces increases in muscle power and free testosterone in male masters athletes. *Endocr Connect.*Vol. 6. Num. 7. 2017. p.430-436.
- 19-Hill, K. M., Stathis, C. G., Grinfeld, E., Hayes, A., McAinch, A.J. Co-ingestion of carbohydrate and whey protein isolates enhance PGC-1alpha mRNA expression: a randomised, single blind, Cross over study. *J Int Soc Sports Nutr.* Vol. 10. Num. 1. 2013. p. 8.
- 20-Jager, R., Metzger, J., Lautmann, K., Shushakov, V., Geiss, K. R., Maassen, N. The effects of Creatine pyruvate and Creatine citrate on performance during high intensity exercise. *J Int Soc Sports Nutr.* Vol. 5. Num. 4. 2008.
- 21-Jeukendrup, A. E. Nutrition for endurance sports: marathon, triathlon, and road cycling. *J Sports Sci.* Vol. 29. Suppl. 1. p. S91-99. 2011.
- 22-Kreider, R.B., Kalman, D.S., Antonio, J., Ziegenfuss, T.N., Wildman, R., Collins, R., Candow, D.G., Kleiner, S.M., Almada, A.L., Lopez, H.L. International Society of Sports Nutrition position stand: safety and efficacy of creatine supplementation in exercise, sport, and medicine. *J Int Soc Sports Nutr.* Vol. 14. Num. 18. 2017.
- 23-Little, J. P., A. Safdar, Wilkin, G.P., Tarnopolsky, M.A., Gibala, M.J. A practical model of low-volume high-intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: potential mechanisms. *J Physiol.* Vol. 588. Num. 6. 2010. p. 1011-1022.

- 24-Miramonti, A.A., Stout, J.R., Fukuda, D.H., Robinson, E.H., Wang, R., La Monica, M.B., Hoffman, J.R. Effects of 4 Weeks of High-Intensity Interval Training and β -Hydroxy- β -Methylbutyric Free Acid Supplementation on the Onset of Neuromuscular Fatigue. *J Strength Cond Res*. Vol. 30. Num. 3. 2016. p. 626-634.
- 25-O'Neill, H. M. AMPK and Exercise: Glucose Uptake and Insulin Sensitivity. *Diabetes Metab J*. Vol. 37. Num. 1. 2013. p. 1-21.
- 26-Owino, V., Yang, S. Y., Goldspink, G. Age-related loss of skeletal muscle function and the inability to express the autocrine form of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in response to mechanical overload. *FEBS Lett*. Vol. 505. Num. 2. 2001. p. 259-263.
- 27-Rodrigues, B., Figueroa, D. M., Mostarda, C.T., Heeren, M.V., Irigoyen, M.C., De Angelis, K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol*. Vol. 6. Num. 38. 2007.
- 28-Roschel, H., Gualano, B., Marquezi, M., Costa, A., Lancha, A.H. Jr. Creatine supplementation spares muscle glycogen during high intensity intermittent exercise in rats. *J Int Soc Sports Nutr*. Vol. 7. Num 1. 2010. p 6.
- 29-Safdar, A., Yardley, N. J., Snow, R., Melov, S., Tarnopolsky, M.A. Global and targeted gene expression and protein content in skeletal muscle of young men following short-term Creatine monohydrate supplementation. *Physiol Genomics*. Vol. 32. Num. 2. 2008. p. 219-228.
- 30-Schaun GZ, Del Vecchio FB. High-Intensity Interval Exercises' Acute Impact on Heart Rate Variability: Comparison Between Whole-Body and Cycle Ergometer Protocols. *J Strength Cond Res*. Vol. 4. 2017.
- 31-Snow, R. J., Murphy, R.M. Factors influencing Creatine loading into human skeletal muscle. *Exerc Sport Sci Rev*. Vol. 31. Num. 3. 2003. p. 154-158.
- 32-Souza, R. A., dos Santos, R.M., Osório, R.A.L., Cogo, J.C., Prianti Jr, A.C.G., Martins, R.A.B.L., Ribeiro, W. Influence of the short and long term supplementation of creatine on the plasmatic concentrations of glucose and lactate in Wistar rats. *Rev Bras Med Esporte*. Vol. 12. Num. 6. 2006. p. 361-365.
- 33-Tarnopolsky, M. A., Bourgeois, J. M., Snow, R., Keys, S., Roy, B.D., Kwiecien, J.M., Turnbull, J. Histological assessment of intermediate- and long-term creatine monohydrate supplementation in mice and rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. Oct; Vol. 285. Num. 4. 2003. p. 762-769.
- 34-Terenzi, G. A creatina como recurso ergogênico em exercícios de alta intensidade e curta duração: uma revisão sistemática. *Revista Brasileira de Nutrição Esportiva*. Vol. 7. Num. 38. 2013. p. 91-98. Disponível em: <<http://www.rbne.com.br/index.php/rbne/article/view/374>>
- 35-Vella, C.A., Taylor K., Drummer, D. High-intensity interval and moderate-intensity continuous training elicit similar enjoyment and adherence levels in overweight and obese adults. *Eur J Sport Sci*. Vol. 17. Num. 9. 2017. p.1203-11.
- 36-Williams, M. H., Branch, J.D. Creatine supplementation and exercise performance: an update. 1998 *J Am Coll Nutr*. Vol. 17. Num. 3. 1998. p. 216-234.
- 37-Xu, W., Lin, D., Huang, C. NMR-based metabolomic analysis for the effects of creatine supplementation on mouse myoblast cell line C2C12. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. Vol. 49. Num. 7. 2017. p. 617-627.
- 38-Yáñez-Silva, A., Buzzachera, C. F., Piçarro, I. D. C., Janeiro, R. S. B., Ferreira, L. H. B., McNulty, S. R., Utter, A. C., Souza-Junior T. P. Effect of low dose, shortterm creatine supplementation on muscle power output in elite youthsoccer players. *J Int Soc Sports Nutr*. Vol. 14. Num. 5. 2017.
- 39-Yen, C. H., Tsao, T. H., Huang, C.U., Yang, C.B., Kuo, C.S. Effects of sweet cassava polysaccharide extracts on endurance exercise in rats. *J Int Soc Sports Nutr*. Vol. 10. Num. 1. 2013. p. 18.

Conflito de interesse

Os autores declaram não ter nenhum conflito de interesse.

1-Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre-RS, Brasil.

2-Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Porto Alegre-RS, Brasil.

3-Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas-RS, Brasil.

E-mail dos autores

carlosfloressl@hotmail.com

dczarnabay@gmail.com

jess.niederauer@gmail.com

ilma@ufrgs.br

hcorleta@gmail.com

edcapp@ufrgs.br

gusdiasferreira@gmail.com

Endereço para correspondência:

Prof. Dr. Gustavo Dias Ferreira

Departamento de Fisiologia e Farmacologia.

Universidade Federal de Pelotas, Campus

Capão do Leão, s/n.

Pelotas-RS, Brasil. CEP 96010-900.

Telefone: +55 53 3275-7335.

Recebido para publicação em 15/12/2017

Aceito em 18/03/2018